

Joonis 3. Näited asjakohastest kineetiliste kõverate kujudest

Kineetilistel kõveratel peaks olema ülespoole kasava kõveraga kuju, nagu ilaloodud näidetes. Siin näidatud proovi näited pärinevad Fungitell STAT®-i testi indeksi vahemikust. Kasutage neid näiteid kvaliteediriteerimide ülevaatamiseks.

Märkus.

1. Kõik analüüsia kasutajad peavad rakendama kvaliteedikontrolli programmi, et tagada analüüsiti tegemise oskusi nende kohalike kohaldatavate eeskirjade kohaselt.
2. Seerumi kontrollproovi (negatiivsete, piirväärtuse lähebasdest või tugevalt positiivset) on soovitatav analüüsida edasiste laborikontrollide ja hea laboritava kontekstis. Need ei sisaldu Fungitell STAT®-i komplektis.

11. Tulemuste tölgendamine

- Negatiivne tulemus**
Indeks väärtused ≤ 0,74 tölgendatakse negatiivsete tulemustena.
Analüütika tegev labor peab teavitama analüütikule tellivat arsti, et mitte kõik seeninfektsioonid ei suurenda seerumi (1→3)-β-D-glükaani sisalust. Mõned seened, näiteks krüptokokkide perekond^{16,17} toodavad (1→3)-β-D-glükaani väga väikestes kogustes. Nutthalikulaadased (*Mucorales*), näiteks *Absidia*, *Mucor* ja *Rhizopus*^{1,17}, ei tooda teadaolevalt (1→3)-β-D-glükaani. Ka *Blastomyces dermatitidis* toob pärni faasis (1→3)-β-D-glükaani vähe ning blastomüüsikoogsat patsiendi ei ole (1→3)-β-D-glükaani sisalused tavataval analüüsiga Fungitell STAT® määratavat¹⁸.
- Ebamäärane tulemus**
Indeks väärtust 0,75 kuni 1,1 peetakse ebaselgeks (ebamääraseks). Soovitav on korduv seerumi proovi võtmine ja analüüsimine. Proovi võtmise ja analüüsimine parandab kasutatavust diagnoosimiseks.
- Positiivne tulemus**
Indeks väärtused ≥ 1,2 tölgendatakse positiivse tulemuseks. Positiivne tulemus tähdab, et proovi tuvastati (1→3)-β-D-glükaani. Positiivne tulemus ei määrate haiguse olemasolu ning seda tuleb diagnoosimisel kasutada koos teiste kliiniliste leidudega.

12. Analüüs piirangud

- Selle analüüsiti seerumikontrollis on vööd möjutada seeninfektsiooni asukoht kudedes⁷, kapseldumine ja teatud seente toodetav (1→3)-β-D-glükaani kogus. (1→3)-β-D-glükaani vähenedud sisenemine vereringesse võib möjutada võimet tuvastada seerumi seeninfektsioone.
- Mõnel inimesel esinevad (1→3)-β-D-glükaani indeksid väärtustused, mis jäävad ebamääraste väärtusti alasse. Sellistel juhtudel on soovitatav teha jälgimiseks lisauringuuid.
- Patsiendi testimise sagedus sõltub seeninfektsiooni esinemise suhtelisest riskist. Riskirühma patsientide soovitatakse proovi võtta vähemalt kaks kuni kolm korda näädas.
- Positiivsete tulemenuseks on saadud hemodialüüsiti patientidel^{19,20,21}, teatud fraktsioneeritud veretootegevuse, näiteks seerumi albumiini ja immunglobuliniidega ravitatavat patientidel^{23,24} ja glükaani sisaldatave marlidega ja kirurgiliste käsnadega kokku piutunud proovidest või uuringus osalejat. Kirurgilisel kokkuputadel (1→3)-β-D-glükaani sisaldatavate käsnade ja tamponidega on vajalik 3–4 päeva möödmüine seerumi (1→3)-β-D-glükaani kontsentraatsiooni langemiseks baasväärtusele^{21,22}. Seeõtlu tuleb kirurgiliste patsientide proovide võtmiseks aja puhal seda ajaolu arvesse võtta. Põhjaliku ülevaate (1→3)-β-D-glükaani valepositiivsete tulemusi põhjustavatest teguritest annab artikkel Finkelmen, M.A., Journal of fungi (2021)⁴⁰.
- Kanna või sõrme kapillaarvere punktsoonaiga saadud prooviide kasutamine ei ole vastuvõetav, sest on näidatud prooviide saastumist uuringukoha ettevalmistamiseks kasutatava alkoholis niisutatud tampaoriga (ja potentsiaalselt ka vere kogunemisest nahapinnale). Semistes uuringutes ei ole veenitust kaudu või veenipunktoona võetud proovidel erinevusid täheldatud^{25,26}.
- Analüüsiti tulemused on määratud täiskasvanud uuringus osalejatel. Imikute ja laste normaalseid ja piirväärtusi uuritakse^{27,28}.

13. Toimivusnäitajad

13.1 Oodatavad väärtused

- Fungitell®-i piirväärtuse määramine**
Selles uuringus kasutati külmutatud anoniimiseeritud patsiienteid seerumiproove, mis olid kogutud sihtõrhuva tavapäras klinilise ravi käigus ja mis saadeti Beacon Diagnostics Laboratory, Inc laborisse Fungitell®-i testimiseks. Beacon Diagnostics Laboratory, Inc on ettevõtte Associates of Cape Cod (ACC) liitsenseeritud Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) laboris. Uuringusse kaasati 93 anoniimiseeritud patsiendi seerumiproovi grupp, mille (1→3)-β-D-glükaani kontsentraatsioonid jaotusid Fungitell®-i standardkõvera koguvahemikus 31–500 pg/ml. Fungitell STAT®-i piirväärtuse hindamine järgis ROC-kõverate (Receiver Operating Characteristic Curves) analüüsiti³⁰. Tulemused näitasid, et Fungitell STAT®-i indeksid väärtusti ≥ 1,2 tuleb tölgendada positiivse tulemenuse vastavuses Fungitell®-i toote 80 pg/ml piirväärtusega, samas kui indeksid väärtuseid ≤ 0,74 tuleb tölgendada negatiivsete tulemenustena vastavuses Fungitell®-i toote 60 pg/ml piirväärtusega. Need piirväärtused kinnitati osana meetodi vöödlusuringust ning allpool esitatud negatiivse ihilduvusprotsendi ja positiivse ihilduvusprotsendi arvutamisest.

13.2. Meetodite võrdlus

Sarnaselt piirväärtuse uuringuga kasutati ka teistsugust proovide komplekti: 488 anoniimiseeritud külmutatud patsiendi seerumiproovi, mille (1→3)-β-D-glükaani kontsentraatsioonid olid jaotunud Fungitell®-i standardkõvera koguvahemikus 31–500 pg/ml³⁰. Nende hulgasi oli 309 proovi, mis jäid Fungitell®-i positiivsesse tsooni, 143 proovi, mis jäid Fungitell®-i positiivsesse tsooni ja 36 proovi, mis jäid Fungitell®-i ebamäärasesse tsooni (**tabel 2**). Kõiki proovi analüüsiti selle uuringu ajal mii Fungitell STAT®-i kui ka Fungitell®-i analüüsidesega. Kui Fungitell STAT®-i ebamäärasesse tsooni jäivad proovid jäeti analüüsist välja, jäi negatiivse ihilduvusprotsendi analüüsiti jaoks alles 290 proovi ja positiivse ihilduvusprotsendi analüüsiti jaoks 119 proovi.

Tabel 2. Analüüs Fungitell STAT® toimivus vörreledes analüüsiga Fungitell®

Fungitell STAT®	Fungitell®			Kokku
	Negatiivne	Ebamäärase	Positiivne	
Negatiivne	283	17	1	301 (61,7%)
Ebamäärase	19	17	24	60 (12,3%)
Positiivne	7	2	118	127 (26,0%)
Kokku	309 (63,3%)	36 (7,4%)	143 (29,3%)	488 (100%)
Negatiivne ihilduvusprotsent (NPA): 97,6%* (283/290)		Positiivne ihilduvusprotsent (PPA): 99,2%* (118/119)		
95% usaldusvahemik (CI): (95,4, 99,9)		95% usaldusvahemik (CI): (95,4, 99,9)		

*Ebaselged (ebamäärasel) tulemused, mida analüüs ei kaasatud; kui kõiki ebamääraseid tulemusi peetakse lahkevateks (nt valepositiivsed või valenegatiivsed), on toimivus järgmine: PPA - 73,8% (118/160), 95% CI: (66,4%, 80,0%); NPA - 91,0% (283/311), 95% CI: (87,3%, 93,7%).

- Negatiivne ihilduvusprotsent**
Kakssada kahesakim mend kolm (283) 290 proovist, mis olid Fungitell®-i seadmega analüüsimeis negatiivsed, olid negatiivsed ka Fungitell STAT®-i analüüsiga. Arvutatud negatiivne ihilduvusprotsent (NPA) Fungitell®-i meetodiga oli 97,6% (95% usaldusvahemik: 95,4%, 99,9%) (**tabel 2**)
- Positiivne ihilduvusprotsent**
Sada kahesaksteist (118) 119 proovist, mis olid Fungitell®-i seadmega analüüsimeis positiivsed, olid positiivsed ka Fungitell STAT®-i analüüsiga. Arvutatud positiivne ihilduvusprotsent (PPA) Fungitell®-i meetodiga oli 99,2% (95% usaldusvahemik: 95,4%, 99,9%) (**tabel 2**).

- Mõõtmisvahemik, lineaarsus ja täpsus**
Indeks tulemused jäid vahemikku ligikaudu 0,4 kuni 3,5, hõlmates analüüsiga Fungitell® standardkõverat (31–500 pg/ml). Fungitell®-i kontsentraatsiooni ja Fungitell STAT®-i indeksi tulemuse lineaare korraltseosil on 0,92 (95% usaldusvahemik: 89,9% ja 93,6%).

- Mõõtmisvahemik, lineaarsus ja täpsus**
Indeks tulemused jäid vahemikku ligikaudu 0,4 kuni 3,5, hõlmates analüüsiga Fungitell® standardkõverat (31–500 pg/ml). Fungitell®-i kontsentraatsiooni ja Fungitell STAT®-i indeksi tulemuse lineaare korraltseosil on 0,92 (95% usaldusvahemik: 89,9% ja 93,6%).

Märkus. PKF08 kasutamisel tarvikvara BG Analytics® kasutatakse liigitamise määramiseks Fungitell STAT® indeksi tulemust. Hinnanguline pg/ml väärtus on esitatud ainult vöödluseks.

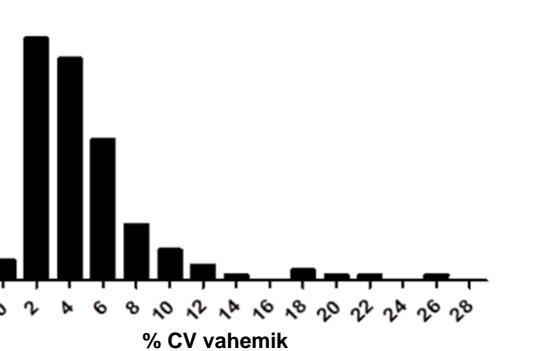
13.3 Analüütiline laboritevaheline uuring

Analüüs Fungitell STAT® täpsust (st korraparavust ja reproduktseeritavust), analüütistik tundlikkust ja analüütistik spetsiifilist hinnati inimese seerumisse *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glükaani lisamisega, et saada viielikmeline paneel, mis koosnes madalalt negatiivsete proovist, kõrgealt negatiivsete proovist (veidi alla alumise läive, 0,74), ebaselget (ebamäärasel) proovist, madalalt positiivsete proovist (veidi üle läimele läive 1,2) ja kõrgealt positiivsete proovist (~2x üle läimele piiri 1,2). Paneel jagati analüüsiga Fungitell STAT® testimiseks kolmele CLIA laborile. Iga labor andis 150 andmeküntki (st 5 proovi x kolm korda tsükli kohta x kaks operaatorit, kes sooritavad tsükli pääves x 5 pääve) kokku 450 andmeküntki jaoks, sh 30 tsükli (st analüüsidi ja 90 andmeküntki proovi kohta (st, paneeli liige). Allpool **tabel 3** esitatakse uuringuindeksit keskmised väärtused on saadud kolme labori esitatud andmetest. Tulp Positiivne protsent tähistab antud paneelilikme prooviide protsentti, mis jäid positiivsete tsooni. Kõigist kolnest laborist olid protsentpositiivsed tulemused madala negatiivse proovi puhul 1,1%, kõrge negatiivse proovi puhul 0%, ebaselge proovi puhul 3,3%, madala positiivse proovi puhul 96,7% ja kõrge positiivsete prooviide proovi puhul 100%.

Tabel 3. Analüütiline laboritevaheline uuring

Panelililine	Keskmine indeks	Standardhälve	% variatsioonikordaja (CV)	Positiivsete protsent (Pos. arv / testitute arv)	Analüütiline spetsiifilus (töeliselt negatiivne) ja analüütiline tundlikkus (töeliselt positiivne)
Madal negatiivne	0,55	0,10	20,4%	1,1% (1/90)	89/90 töeliselt negatiivne
Kõrge negatiivne	0,75	0,08	11,1%	0% (0/90)	90/90 töeliselt negatiivne
Ebamäärase	0,94	0,10	11,1%	3,3% (3/90)	87/90 mittepositiivne
Madal positiivne	1,6	0,30	18,7%	96,7% (87/90)	87/90 töeliselt positiivne
Kõrge positiivne	2,6	0,40	15,4%	100% (90/90)	90/90 töeliselt positiivne

Nagu on näidatud tabelis 3, oli analüüsivedaheline variatsioon (st % CV) vahemikus 11 kuni 20,4% ja see oli reproduktseeritavuse mõõt. Analüüsisisene varieeruvus oli vahemikus 0,4% kuni 26,8% ja see oli korraparavuse mõõt. Analüüsisisene CV vahemiku jaotus % on toodud allpool **joonisel 4**. Üldiselt oli 94% CV väärtustest 10% või vähem ja 75% CV väärtustest 6% või vähem.



Joonis 4. Analüüsisisete CV väärtuste jaotus

13.4 Töesus

Toote Fungitell STAT®iga partii jaoks kalibreeritakse Fungitell STAT® standard (1→3)-β-D-glükaani kontsentraatsiooni väärtusele 80 +/- 8 pg/ml, kasutades Fungitell® vöödlusmeetodit ja sisemise (1→3)-β-D-glükaani vöödlusstandardi vastu.

13.5 Segavadained

Analüüsiga Fungitell STAT® täpsete tulemuste saamist võivad häirida järgmised proovi seotud seisundi:

- Värvimutund või hääbus, näiteks olulisel hemolüüsili, lõipeemilisest või liigset bilirubini sisaldavat proovi võivat optiliselt analüüsida häirida. Selliste prooviid testimisel saab analüüsiti kontrollima optiliste segajate töendite ja/või ebavatavate kineetiliste mustrite.
- Immunoglobulini G sisalduv tõus, nagu see võib olla seerumis hulgimüeloomi korral, võib põhjustada reaktiisioonisega sadestumist pärast Fungitell STAT® lisamist eeltöödeldud seerumile³¹.
- Selle kirjutamise seisuga ei ole Fungitell® reagendi aktiiveeritav faktorit G ((1→3)-β-D-glükaani tuvastamise element) kirjeldatud peale (1→3)-β-D-glükaani. Mõnedes uuringutes, kus on väidetud ristreagentust, on oletatava aktiiveeriva materjali töötlemine puhastatud (1→3)-β-D-glükaaniga signaalit kõrvandanud, näidates, et taheldatud aktiiveerimine oli tingitud (1→3)-β-D-glükaaniga saastumisest¹². Seriaproteasa saastumine võib samuti põhjustada Fungitell®-i reaktiisioonidega para-nitroaniliini vabanemist, kuid need inaktiiveeritakse eeltöötlusprotsessi osana.

14. Metaanalüüs

Peale selle on avaldatud arvukalt resentsseeritud uuringuid invasiivse seenhaiguse diagnoosi seerumi (1→3)-β-D-glükaani põhineva toetamise teemal, sealhulgas diagnoosimisvõime metaanalüüs^{32,33,34,35,36,37,38,39}.

34. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, Marchetti O. β -Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis.* 2012; 54:633-43.
35. Onishi A1, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawan S, Morinobu A, Nishimura K, Kumagai S. Diagnostic accuracy of serum 1,3- β -D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 2012; 50:7-15.
36. Karageorgopoulos DE, Qu JM, Korbila IP, Zhu YG, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β -D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19:39-49.
37. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3- β -d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015 Aug;48:351-61.
38. He S1, Hang JP2, Zhang L2, Wang F2, Zhang DC3, Gong FH4 A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3- β -d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect.* 2015 Aug;48:351-61.
39. Wong J, Zhang Y, Patidar A, Vilar E, Finkelman M, Farrington K. Is Endotoxemia in Stable Hemodialysis Patients an Artifact? Limitations of the Limulus Amebocyte Lysate Assay and Role of (1 \rightarrow 3)- β -D Glucan. *PLoS One.* 2016 Oct 20;11(10):e0164978. doi: 10.1371/journal.pone.0164978. eCollection 2016.
40. Finkelman M. Specificity Influences in (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J Fungi (Basel)* 2020 Dec 29;7(1):14